

ного сигнала из дыхательных шумов // Молодежь XXI века: шаг в будущее: материалы X региональной межвузовской науч.-практ. конф. Благовещенск: Поли-М, 2009. Т.2. С.221–222.

3. Задорожный П.Ю., Ульянычева В.Ф. Оптимальная фильтрация шумоподобного сигнала // Физика: фундаментальные и прикладные исследования, образование: материалы VIII региональной науч. конф. Благовещенск: АмГУ, 2009. С.24–28.

4. Задорожный П.Ю. Система мониторинга дыхательных шумов // Молодежь XXI века: шаг в будущее: материалы XI региональной науч.-практ. конф., посвященной 65 годовщине Победы в Великой Отечественной войне (20-21 мая 2010). Благовещенск: АмГУ, 2010. Часть 4. С.115–116.

5. Задорожный П.Ю., Ульянычев Н.В. Беспроводная система мониторинга дыхательных шумов // Информатика и системы управления. 2010. №2 (24). С.80–82.

6. Способ диагностики остановки дыхания во сне: пат. 2360599 C1 RU: МПК A61B5/09 / авторы и заявители В.П.Колосов, Ю.М.Перельман, Н.В.Ульянычев, В.Ф.Ульянычева; патентообладатель ООО «Центр медицинских инноваций» (RU) №2007148744; заявл. 24.12.2007; опубл. 10.07.2009. Бюл. №19.

7. Лем Г. Аналоговые и цифровые фильтры. Расчет и реализация: пер. с англ. / под ред. И.Н.Теплюка. М.: Мир, 1982. 592 с.

8. Способ фильтрации дыхательных шумов на основе задержки дыхания: пат. 2415643 C1 RU: МПК A61B5/08 / авторы и заявители Н.В.Ульянычев, П.Ю.Задорожный, В.П.Колосов, В.Ф.Ульянычева; патентообладатель Учреждение Российской академии медицинских наук Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания Сибирского отделения РАМН (RU) №2009138995; заявл. 21.10.2009; опубл. 10.04.2011. Бюл. №10.

Поступила 27.09.2011

*Николай Вячеславович Ульянычев, руководитель лаборатории,
675000, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22;
Nikolai V. Ulyanychev,
22 Kalinina Str., Blagoveshchensk, 675000;
E-mail: nik123455@mail.ru*



УДК 576.382: 616.223-001.19[615.322

С.С.Целуйко, С.В.Зиновьев, А.П.Кондрахина, Д.А.Семенов

**ЦИТОМОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СЕКРЕТА ВЕРХНИХ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ
ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ НИЗКОЙ ТЕМПЕРАТУРЫ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ
НА ОРГАНИЗМ ЧЕЛОВЕКА НА ФОНЕ ПРИЕМА ДИГИДРОКВЕРЦЕТИНА**

*ГБОУ ВПО Амурская государственная медицинская академия Минздравсоцразвития РФ,
Благовещенск*

РЕЗЮМЕ

Проведено цитологическое и морфометрическое изучение назального секрета и слюны у 117 здоровых лиц. Установлено, что цитологические и морфометрические параметры секрета верхних дыхательных путей и морфологические показатели микробиоценоза ротовой полости могут служить маркером воздействия низкой температуры окружающей среды на организм и оценочным крите-

рием эффективности биофлавоноида дигидрокверцетина при коррекции холодовой адаптации организма человека. При дискриминантном анализе обнаружена высокая информативность парциального веса клеток эпителия в назальной цитограмме.

Ключевые слова: цитоморфологическая характеристика, секрет верхних дыхательных путей, микроорганизмы, адаптация к холоду, дигидрокверцетин.

SUMMARY

S.S.Tseluyko, S.V.Zinov'ev, A.P.Kondrakhina,
D.A.Semenov

**CYTOLOGICAL AND MORPHOLOGIC
CHARACTERISTIC OF UPPER AIRWAYS
SECRET AT ENVIRONMENT COLD
TEMPERATURES INFLUENCE ON THE BODY
OF A MAN AGAINST DIHYDROQUERCETIN
TAKING**

Cytological and morphometric study of nasal secret and saliva was done in 117 healthy people. It was found out that cytological and morphometric parameters of upper airways secret and morphological parameters of mouth microbiocenosis can serve as a marker of environment cold temperatures influence on the body of a man and as an evaluative criterion of dihydroquercetin bioflavonoid effectiveness at the correction of cold adaptation on the body of a man. At the discriminant analysis a high informativeness of the partial weight of cells of epithelium in nasal cytogram was found.

Key words: cytological and morphometric characteristic, upper airways secret, microorganisms, adaptation to cold, dihydroquercetin.

Экспериментальные и клинические исследования целого ряда авторов показали, что под влиянием холодового стресса формируется предрасположенность к развитию заболеваний органов дыхания [2, 7]. Ранее в эксперименте нами было установлено, что биофлавоноид дигидрокверцетин может выступать в качестве цитопротектора в случае холодового воздействия на организм человека [8]. В то же время механизм положительного воздействия на слизистую оболочку органов дыхания при включении дигидрокверцетина в качестве биологически активной добавки в рацион питания мало изучен.

Ранее нами были продемонстрированы результаты изучения локализации минеральных веществ на поверхности мембран клеток при воздействии низкой температуры на организм с помощью ализаринового метода окрашивания ионов кальция [3]. Актуальность этого направления подтверждают и другие авторы [1, 4]. Кристаллография является одним из микрометодов, с помощью которого проводят исследование тканевого метаболизма слизистой оболочки органов дыхания [3, 6]. Существует мнение, что кристаллография более чувствительна, чем гистохимическое окрашивание минеральных веществ, расположенных на поверхности клеток [3, 5].

Цель работы: изучить цитоморфологические особенности секрета верхних дыхательных путей у здоровых лиц при воздействии низких температур окружающей среды на фоне приема дигидрокверцетина, установить диагностическую информативность цитологического состава назального секрета для оценки реакции организма на воздействие холода.

Материалы и методы исследования

Объектом исследования явились 117 практически

здоровых лиц в возрасте от 18 до 30 лет. Работа одобрена этическим комитетом Амурской государственной медицинской академии. Все исследования были проведены с учетом требований Хельсинкской декларации Всемирной ассоциации «Этические принципы проведения научных исследований с участием человека» с поправками 2000 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом МЗ РФ от 19.06.2003, №266.

Исследование назального секрета проводили у трех групп здоровых лиц: в 1 группе (контрольной) находился 61 человек, во 2 группе 30 участников исследования подвергались закаливанию низкой температурой окружающего воздуха, в 3 группе у 26 человек выполнялась коррекция воздействия низкой температуры окружающего воздуха приемом дигидрокверцетина. В 1 группе обследование проводили в летний период, во 2 группе участники исследования подвергались закаливанию в конце декабря, во время уличной прогулки в течение одного часа, при низкой температуре окружающей среды (в среднем -30°C). В 3 группе здоровые лица в целях коррекции холодового стресса в течение 14 дней в составе питания принимали дигидрокверцетин (Лавиокард, Россия) в дозе 600 мг/сут, после чего эта группа испытуемых в январе подвергалась закаливанию воздействию низкой температуры по указанному выше методу.

У здоровых лиц сразу после воздействия низкой температуры окружающей среды на организм из нижнего носового хода с помощью смоченной дистиллированной водой ватной палочки извлекали назальный секрет, секрет наносили на предметное стекло и на подложку из алюминиевой фольги. После высыхания жидкости сухой остаток изучали под световым микроскопом и сканирующим электронным микроскопом S-3400 (Hitachi, Япония). Дополнительно исследовали секрет ротовой полости следующим образом: утром натощак пациент полоскал рот дистиллированной водой (100 мл) в течение 2 минут для освобождения полости рта от остатков пищи. Через 15 минут проводили повторное тщательное полоскание полости рта дистиллированной водой (10 мл). Из промывной жидкости делали 2 мазка на предметном стекле и на подложке из алюминиевой фольги. Мазки клеток назального секрета и слюны фиксировали в парах формалина, окрашивали по Романовскому-Гимза. Морфометрический анализ кристаллографической картины проводили на микрофотографиях с помощью программного обеспечения «Optica Vision Pro» (Италия). Количество кристаллов в назальном секрете оценивали по системе баллов с учетом рекомендаций для оварияльного теста [3]. Степень выраженности симптома папоротника определяется баллами: 0 баллов (-) – кристаллизация отсутствует, слизь аморфная; 1 балл (+) – кристаллизация со смазанным нечетким рисунком в виде отдельных стеблей и игл кристаллов; 2 балла (++) – четко выраженная структура листа папоротника с тонким и ясным рисунком; 3 балла (+++) – крупные кристаллы, массивные стебли, ветви расходятся под углом 90°. Температурный градиент кожных

покровов лица и шеи оценивали с помощью тепловизора «ТВ-04 КСТ» (Россия). Статистическую обработку результатов исследования проводили с помощью t-критерия Стьюдента и пошагового дискриминантного анализа.

Результаты исследования и их обсуждение

Ватная палочка, которую мы использовали для забора назального секрета, имеет небольшой объем – $0,7 \times 0,5 \times 0,5$ см. Поэтому ватный тампон небольших размеров, смоченный дистиллированной водой, не вы-

зывает осмотического лизиса клеток в момент получения материала, что обеспечивает возможность цитологического исследования секрета. Интересно, что в гипотонических препаратах назального секрета обнаруживаются единичные эритроциты. Поэтому при фиксации препаратов назального секрета в парах формалина мы получаем эффект, аналогичный классическим способам фиксации для цитохимии и цитогенетики (например, фиксатор Карнуа).

Результаты изучения клеточного состава назального секрета представлены в таблице 1.

Таблица 1

Характеристика клеточного состава назального секрета в исследуемых группах

Показатели, %	1 группа	2 группа	3 группа
Гиперплазированные клетки	$0,001 \pm 0,001$	$1,5 \pm 0,9$	$1,0 \pm 2,7$
Тучные клетки	$0,001 \pm 0,001$	$0,2 \pm 0,2$	$0,4 \pm 0,27$
Плоский эпителий	$59,3 \pm 12,4$	$17,6 \pm 4,0^{**}$	$49,5 \pm 7,8^{##}$
Цилиндрический эпителий	$6,1 \pm 2,9$	$37,4 \pm 6,6^*$	$16,2 \pm 5,9^{\#}$
Нейтрофильные лейкоциты	$33,8 \pm 10,6$	$41,6 \pm 5,6$	$32,0 \pm 7,0$
Лимфоциты	$0,6 \pm 0,25$	$1,3 \pm 0,35$	$0,4 \pm 0,17$
Эозинофилы	$0,5 \pm 0,3$	$0,09 \pm 0,08$	$0,5 \pm 2,4$
Моноциты	$0,1 \pm 0,07$	$0,3 \pm 0,15$	$0,01 \pm 0,001$

Примечание: * – $p < 0,01$; ** – $p < 0,001$ – уровень статистической значимости различий показателей между 1 и 2 группами; # – $p < 0,05$; ## – $p < 0,01$ – между 2 и 3 группами.

При цитологическом исследовании назального секрета было обнаружено существенное воздействие выбранного нами режима воздействия холодом на организм здоровых лиц. Так, в группе испытуемых, подвергавшихся закаливанию действием холода, в парциальной цитограмме назального секрета существенно повышается содержание эпителиальных клеток, достоверно превышающее показатели контрольной группы ($p < 0,01$). При этом в препаратах нет митоза эпителиальных клеток. В то же время в назальном секрете присутствуют ороговевшие клетки – «роговые чешуйки» многослойного плоского ороговевшего эпителия (рис. 6). Парциальный вес сегментоядерных лейкоцитов в препаратах у лиц 2 группы не отличался от показателей в контроле.

Между группами лиц, подвергавшихся воздействию холода и интактных участников исследования был проведен пошаговый дискриминантный анализ основных морфофункциональных параметров назального секрета, в результате которого достоверность различия выборок по показателям содержания клеток неороговевающего плоского эпителия и эозинофилов составила 99,9%. Получено дискриминантное уравнение:

$$d = 0,782 \times \text{клетки неороговевающего плоского эпителия (\%)} + 20,804 \times \text{эозинофилы (\%)},$$

где d – дискриминантная функция, граничное значение которой составляет 36,26. Мы считаем, что при величине граничного значения менее указанной величины можно думать о патологической клеточной реакции организма на воздействие холода, при величине граничного значения более 36,26 можно судить о «нормальной» клеточной реакции организма на холодовое воздействие. Вероятность ошибочной

классификации составляет 21%.

В 3 группе парциальный вес цилиндрических эпителиальных клеток в цитограмме назального секрета на фоне приема дигидрокверцетина был значительно ниже, чем у лиц во 2 группе ($p < 0,05$). Статистически значимых отличий в процентном содержании в цитограмме сегментоядерных нейтрофильных лейкоцитов во 2 и 3 группах не установлено.

По нашему мнению, использование дигидрокверцетина в качестве пищевой биологически активной добавки позволяет корректировать воздействие холода на эпителиальное ложе полости носа. Проведен пошаговый дискриминантный анализ результатов цитологического исследования назального секрета между 2 и 3 группами, достоверность различия выборок по показателям содержания клеток плоского эпителия составила 99,9%. В результате получено дискриминантное уравнение:

$$d = -0,533 \times \text{клетки плоского эпителия (\%)},$$

где d – дискриминантная функция, граничное значение которой составляет -18,32. Мы считаем, что при величине граничного значения более указанной величины можно прогнозировать положительный эффект применения данной биологически активной добавки с целью коррекции реакции адаптации к холоду, при величине граничного значения менее -18,32 можно предполагать отсутствие такого эффекта при использовании указанного адаптогена. Вероятность ошибочной классификации составляет 35%.

Изучение морфометрических параметров клеток значительно объективизирует результаты исследования парциального состава назальной цитограммы (табл. 2).

Таблица 2

Морфометрическая характеристика цилиндрического эпителия в мазках назального секрета в изучаемых группах

Параметры	1 группа	2 группа	3 группа
Длина клетки, мкм	35,6±2,03	39,6±1,15*	33,2±0,87#
Длина ядра, мкм	13,2±0,76	14,6±0,28	14,7±0,35
Площадь клетки, мкм ²	385,6±13,0	479,9±16,9*	447,4±18,7
Периметр клетки, мкм	88,9±5,17	107,0±2,60**	96,1±2,26##
Площадь ядра, мкм ²	92,99±9,9	150,7±4,4***	150,1±6,5
Периметр ядра, мкм	44,0±3,67	50,6±0,72**	40,29±0,87#

Примечание: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$ – уровень статистической значимости различий показателей между 1 и 2 группами; # – $p < 0,01$; ## – $p < 0,001$ – между 2 и 3 группами.

Установлено, что при воздействии низких температур на здоровых людей морфометрические параметры клеток цилиндрического многорядного эпителия достоверно увеличиваются в сравнении с контролем. При применении дигидрокверцетина происходит достоверное уменьшение морфометрических параметров клеток цилиндрического многорядного эпителия в сравнении с группой, которую подвергали воздействию низкой температуры (табл. 2). Полученные нами результаты микроскопического исследования нативной кристаллограммы назального секрета показали, что морфометрические показатели цилиндрического эпителия могут характеризовать метаболизм тканей дыхательных путей при воздействии холода на организм человека, что является актуальным для оценки эффективности предлагаемых способов коррекции холодового окислительного стресса [7].

Учитывая, что в случае холодового воздействия на организм человека достоверно увеличиваются морфометрические показатели клеток многорядного эпителия слизистой носа, можно предположить наличие в эпителиальной ткани нарушений физико-химического гомеостаза. При световой и растровой электронной микроскопии препаратов назального секрета и слюны в полях зрения обнаруживаются клетки и кристаллы разнообразной формы: в виде листа папоротника, древовидные, прямоугольные и т.д. В случае фиксации парами формалина отмечается высокая устойчивость кристаллов к действию красителя Романовского-Гимза. С помощью растровой микроскопии препаратов назального и ротового секрета мы уточнили типы изучаемых кристаллов. В кристаллограмме назального и орального секрета обнаруживаются кристаллы мочевины, натрия хлорида, цистина, струвиты, солей кальция, лизоцим и др. (рис. 1-6).

Нами установлено, что результаты цитологического исследования секрета полости рта отражают положительный эффект коррекции общего охлаждения организма дигидрокверцетином. При коррекции воздействия низких температур дигидрокверцетином отмечается снижение выраженности кристаллизации секрета полости рта до $0,4 \pm 0,05$ балла, что достоверно отличается от данных, полученных при холодовом воздействии – $1,2 \pm 0,21$ балла ($p < 0,05$). При световой и растровой микроскопии секрета полости носа мы обнаружили, что положительный симптом кристаллиза-

ции секрета носового секрета и слюны являются результатом агрегации в кристаллы древовидной формы (симптом листа папоротника) неклеточных компонентов биологических секретов дыхательных путей, а также микроорганизмов. При световой микроскопии отмечается отложение кристаллов на периферии клеток, что подтверждается данными растровой микроскопии. Причем кристаллы формируют зоны на поверхности сморщенных лейкоцитов (рис. 1, 3). Для этих клеток характерны выраженные пикнотические изменения ядра и цитоплазмы. Диаметр клеток нейтрофильных лейкоцитов уменьшается до 3-4 мкм.

Полученные нами данные микроскопического исследования назального секрета характеризуют метаболизм тканей дыхательных путей при воздействии холода на организм человека. Обращает на себя внимание участие микроорганизмов, клеток плоского эпителия, нейтрофильных лейкоцитов в самоорганизации кристаллов «симптома папоротника». В такой ситуации со стороны лейкоцитов и других клеток отмечается выраженный пикноз ядра и цитоплазмы. Это подтверждает то, что в зонах кристаллизации секрета органов дыхания развивается высокая осмолярность биологических жидкостей, приводящая к сморщиванию клеток. Цитологические и морфометрические показатели назального секрета и слюны указывают на то, что дигидрокверцетин обладает свойствами цитопротектора при коррекции воздействия холода на организм человека.

Выводы

1. Ватный тампон небольших размеров, смоченный дистиллированной водой, не вызывает осмотического лизиса клеток в момент получения материала, что обеспечивает возможность проведения цитологического исследования назального секрета. Фиксация препаратов назального секрета в парах формалина позволяет получить эффект, аналогичный классическим способам фиксации для цитохимии и цитогенетики.

2. При пошаговом дискриминантном анализе установлено, что цитологическая и кристаллографическая характеристика секрета верхних отделов дыхательных путей и полости рта может служить маркером воздействия низкой температуры окружающей среды на организм человека и оценочным критерием

эффективности коррекции холодовой адаптации организма с помощью дигидрокверцетина.

3. Микроорганизмы способны к агрегации в состав биокристаллов, отложившихся на поверхности клеток верхних отделов дыхательных путей и полости рта.



Рис. 1. Назальный секрет, контрольная группа. Низкая кристаллизация со смазанным нечетким рисунком в виде отдельных стеблей и игл кристаллов (2). Кристаллы отлагаются на поверхности клеток плоского эпителия (1). Растровая электронная микроскопия. Увеличение: 500.

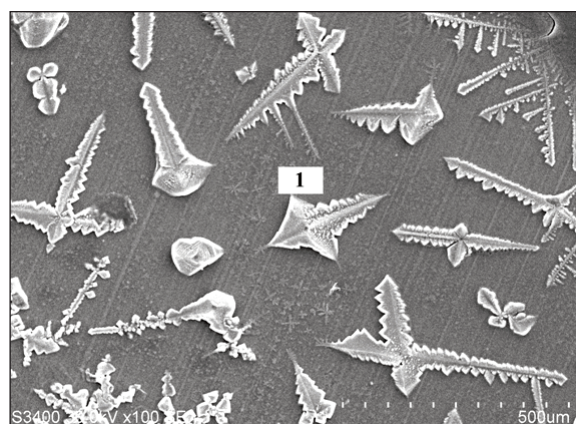


Рис. 2. Назальный секрет, 2 группа. Выраженная кристаллизация (+++) назального секрета при воздействии низкой температуры на организм (1). Растровая электронная микроскопия. Увеличение: 100.

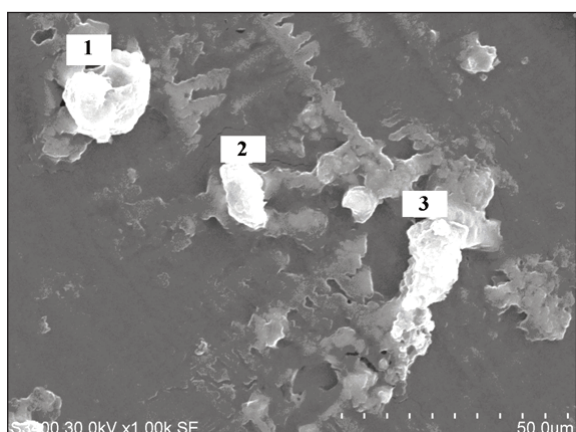


Рис. 3. Назальный секрет, 2 группа. Зоны кристаллизации назального секрета. Клетки агрегируют в состав кристаллов (1, 2, 3). Растровая электронная микроскопия. Увеличение: 1000.

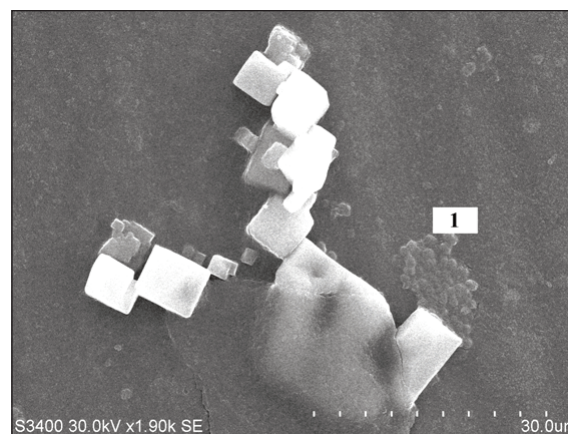


Рис. 4. Секрет полости рта, контрольная группа. Отложение скопления микроорганизмов на поверхности кристаллов (1). Растровая электронная микроскопия. Увеличение: 1900.

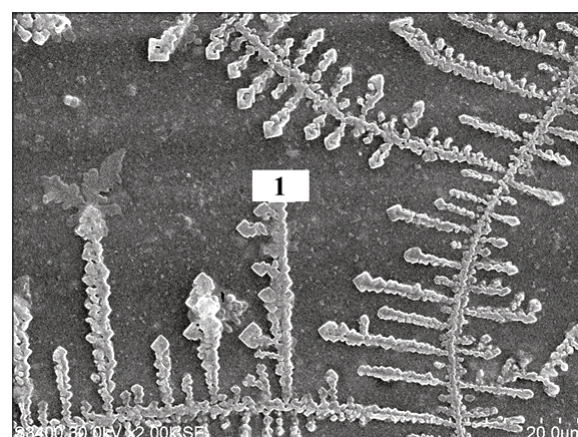


Рис. 5. Назальный секрет, 3 группа. Отмечается низкая кристаллизация назального секрета человека при воздействии низкой температуры на организм на фоне введения дигидрокверцетина (1). Растровая электронная микроскопия. Увеличение: 2000.

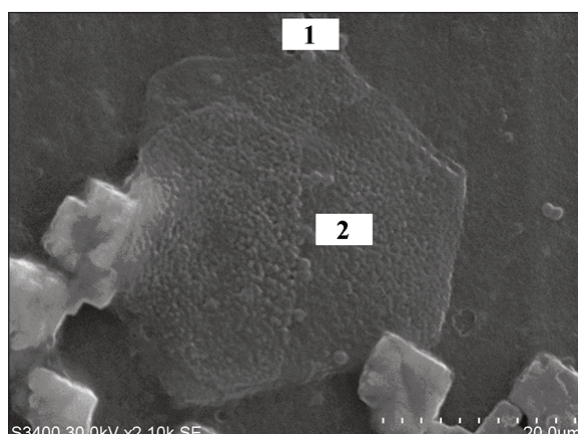


Рис. 6. Назальный секрет, 3 группа. Воздействию низкой температуры на организм на фоне введения дигидрокверцетина. Отложение скоплений микроорганизмов (1) на поверхности ороговевшей клетки плоского эпителия (роговой чешуйки). Растровая электронная микроскопия. Увеличение: 2100.

ЛИТЕРАТУРА

1. Голохваст К.С. О возможных клеточных рецеп-

торах к неорганическим кристаллическим лигандам // Журнал науч. публ. аспирантов и докторантов. 2007. № 12. С.122–123.

2. Доровских В.А., Целуйко С.С. Антиоксидантные препараты различных химических групп в регуляции стрессирующих воздействий. Благовещенск: АГМА, 2004. 268 с.

3. Зиновьев С.В., Кондрахина А.П., Козлова В.С. Морфологическая характеристика кристаллограммы назального секрета при воздействии низкой температуры окружающей среды и биофлавоноидов на организм человека // Бюл. физиол. и патол. дыхания. 2011. Вып.40. С.22–25.

4. Зиновьев С.В. Локализация ионов кальция на мембране эритроцитов кролика при общем охлаждении организма // Диагностика состояния дыхательной системы: материалы XVII сессии СО АМН СССР. Бла-

говещенск, 1988. С.5–8.

5. Кириченко В.И., Дорофиев Н.Н. Гистохимическая локализация Ca^{2+} в форменных элементах крови больных бронхиальной астмой // Бюл. физиол. и патол. дыхания. 2001. Вып.9. С.7–10.

6. Возможность использования кристаллографического метода исследования назального секрета у организованных школьников / Е.Г.Рыжова [и др.] // Инфекционные аспекты соматической патологии у детей: материалы III Всероссийской науч.-практ. конф. М., 2010. С.5–7.

7. Tseluyko S.S. Structural changes in the lungs during cooling against the background of the introduction of bioflavonoid of digidroquercetin and correction by the quantum therapy // Modern problems of pharmacology, pharmacognosies and pharmaceutics: the 6th Russia-China Pharmaceutical Forum. Blagoveshensk, 2009.

Поступила 09.11.11

*Сергей Семенович Целуйко, зав. кафедрой
гистологии и ЦНИЛ АГМА,
675000, г. Благовещенск, ул. Горького, 95;
Sergey S. Tseluyko,
95 Gorkogo Str., Blagoveshensk, 675000;
E-mail: agma.agma@yandex.ru*



УДК 618.36-008.64:618.172-008.6

Т.С.Быстрицкая, Н.Н.Штель, Д.С.Лысяк

ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ПЛАЦЕНТАРНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ У БЕРЕМЕННЫХ С НАРУШЕНИЕМ СТАНОВЛЕНИЯ МЕНСТРУАЛЬНОЙ ФУНКЦИИ В ПУБЕРТАТНОМ ПЕРИОДЕ

*ГБОУ ВПО Амурская государственная медицинская академия Минздравсоцразвития РФ,
Благовещенск*

РЕЗЮМЕ

Обследовано 114 беременных женщин с нарушением становления менструальной функции в пубертатном периоде и 30 – без нарушения становления менструальной функции. Установлено, что беременность у женщин с нарушением становления менструальной функции в пубертатном периоде чаще осложнялась первичной и хронической плацентарной недостаточностью, угрозой

прерывания, железодефицитной анемией относительно женщин без нарушения становления системы репродукции. С целью прогнозирования развития хронической плацентарной недостаточности предложены дискриминантные уравнения, учитывающие характер нарушений менструальной функции в пубертатном периоде в зависимости от содержания прогестерона, β -субъединицы хорионического гонадотропина и эхографического измере-